

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



PA/IB 04/2204

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

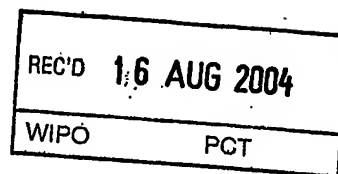
Ufficio G2



**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. MI 2003 A 001476 del 18.07.2003**

Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

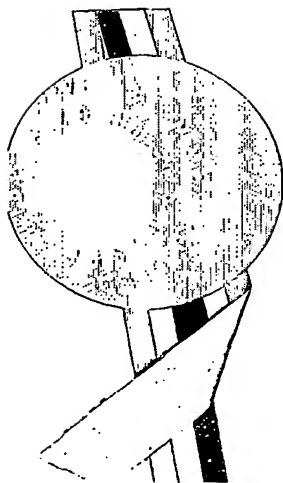
Roma, li..... **3 AGO. 2004**



IL FUNZIONARIO

Giampietra Carlotta

Giampietra Carlotta



AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO
 Residenza Milano
 2) Denominazione _____
 Residenza _____
 codice 03064870151

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Dr.ssa Federica TRUPIANO (613BM) e altri
 denominazione studio di appartenenza MARIETTI, GISLON e TRUPIANO S.r.l.
 via Larga n. 16 città Milano cap 20122 (prov) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/ci/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____

Composti peptido-mimetici a struttura azabicycloalcanica
comprendenti la sequenza RGD.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

E. INVENTORI DESIGNATI

1) SCOLASTICO, Carlo 2) MANZONI, Leonardo Pierpaolo
 3) COLOMBO, Lino Francesco 4) COLOMBO, Matteo Giuseppe

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R
1) _____	_____	_____	____/____/____	<input type="checkbox"/>
2) _____	_____	_____	____/____/____	<input type="checkbox"/>

SCIOGLIMENTO RISERVE
 Data _____ N° Protocollo _____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.	PROV	n. pag.	RIS	n. tav.	contenuto
Doc. 1)	<input checked="" type="checkbox"/>	<u>136</u>	<input type="checkbox"/>	<u>107</u>	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
Doc. 2)	<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 3)	<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
Doc. 4)	<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		designazione inventore
Doc. 5)	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6)	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7)	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE
 Data _____ N° Protocollo _____
 confronta singole priorità

B) attestati di versamento, totale Euro

Duecentonovantuno/79

COMPILATO IL 17/07/2003

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

Dr.ssa Federica TRUPIANO

obbligatorio

CONTINUA SI/NO SI

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI MILANO

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2003A 001476

Reg. A.

codice 145

L'anno DUEMILATRE, il giorno DICIOTTO, del mese di LUGLIO

Il(I) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di _____ fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopralportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

AGGIUNTA MODULO A
M2003A00K176_{N.G.}

A. RICHIEDENTE (1)

[illegible]

E. INVENTORI DESIGNATI

[illegible]

F. PRIORITÀ .

[illegible][illegible]

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I) Dr.ssa Federica TRUPIANO

Feeder corporations

NUMERO DOMANDA

MI 2003A001476

REG. A

DATA DI DEPOSITO

1807/2003

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

11/11/1111

D. TITOLO

Composti peptido-mimetici a struttura azabiccicloalcanica
comprendenti la sequenza RGD.

L. RIASSUNTO

La presente invenzione ha per oggetto composti ciclici, in particolare a struttura azabiccicloalcanica di formula generale (I), un procedimento per la loro preparazione, ed il loro impiego come intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici biologicamente attivi contenenti la sequenza RGD (Arg-Gly-Asp).



M. DISEGNO



Federica Trupiano

Descrizione dell'Invenzione avente per titolo:

**"COMPOSTI PEPTIDO-MIMETICI A STRUTTURA AZABICICLOALCANICA
COMPREDENTI LA SEQUENZA RGD."**

a nome UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO, con sede in Milano

Inventori: SCOLASTICO, Carlo; COLOMBO, Lino Francesco;
MANZONI, Leonardo Pierpaolo; COLOMBO, Matteo Giuseppe;
DI GIACOMO, Marcello

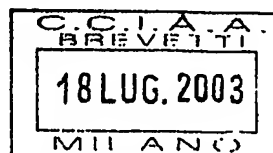
OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha per oggetto composti ciclici, in particolare a struttura azabicicloalcanica, un procedimento per la loro preparazione, ed il loro impiego come intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici biologicamente attivi contenenti la sequenza RGD (Arg-Gly-Asp).

STATO DELLA TECNICA

Un gran numero di processi fisiologici coinvolgono peptidi biologicamente attivi attraverso le loro interazioni con recettori ed enzimi. Per lungo tempo si è quindi pensato allo sviluppo di strutture peptidiche ad elevata attività biologica da impiegare come potenziali farmaci per il trattamento e la cura di numerose patologie. I peptidi però non possono essere considerati dei farmaci ideali, data la loro scarsa stabilità metabolica, la elevata velocità di escrezione, e la bassa selettività generalmente mostrata verso specifici recettori. Gli studi si sono quindi orientati verso la progettazione di analoghi di peptidi che fossero in grado di mimare l'azione dei corrispondenti peptidi naturali a livello recettoriale. Composti con le suddette caratteristiche sono comunemente indicati con il termine "peptidomimetici". Ad esempio come descritto in US 6,451,972, sono stati studiati composti peptido-

MI 2003A001476



Federica Trupiano

mimetici contenenti una sequenza RGD (Arg-Gly-Asp) e caratterizzati da una struttura azabiccicloalcanica, che mostrano attività come inibitori dell'adesione cellulare mediata da integrine $\alpha v \beta 3$. Grazie a questa attività biologica, i suddetti composti sono descritti come utili agenti terapeutici nel trattamento di patologie dovute ad angiogenesi alterata, per esempio patologie tumorali.

Una delle difficoltà che si sono osservate nell'impiego di peptidi biologicamente attivi come possibili farmaci, è relativa al fatto che le molecole peptidiche possono assumere svariate conformazioni, non tutte equivalenti e soprattutto non tutte in grado di interagire, ad esempio con i recettori, in modo equivalente.

Anche nel corso degli studi sui composti peptido-mimetici, si è notata una libertà conformazionale talvolta troppo elevata, che ha portato, in alcuni casi, alla perdita di attività biologica e alla diminuzione della selettività e dell'affinità del composto peptido-mimetico nei confronti del recettore.

SCOPI DELL'INVENZIONE

Scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione dei composti a struttura azabiccicloalcanica che risultino utili intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici ad attività biologica.

Pure scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione un procedimento per la preparazione di detti composti a struttura azabiccicloalcanica.

Ancora scopo del presente trovato è quello di mettere a disposizione un procedimento per la sintesi di composti peptido-mimetici che preveda l'impiego di detti azabiccicloalcani.

Sempre scopo del presente trovato è quello di mettere a disposizione composti peptido-mimetici che comprendano la struttura azabiccicloalcanica e la sequenza RGD che risultino costretti dal punto di vista conformazionale.

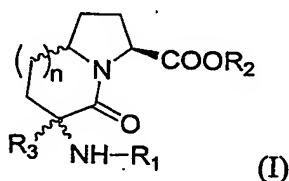
Federica Truplano

Scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione composti peptido-mimetici che presentino attività biologica come inibitori dell'angiogenesi e che possano essere utilizzati come farmaci ad esempio ad azione antitumorale.

Pure scopo del trovato è quello di mettere a disposizione composti peptido-mimetici che possano essere impiegati come veicoli per il trasporto di molecole ad attività farmacologica, consentendone il facile rilascio in situ.

DESCRIZIONE

Questi ed altri scopi ancora e relativi vantaggi che meglio saranno evidenziati dalla descrizione che segue, vengono raggiunti da composti aventi la seguente formula generale:



dove:

- R_1 è scelto tra idrogeno, alchile inferiore, adatto gruppo protettivo dell'ammina;
- R_2 è scelto tra idrogeno, adatto gruppo protettivo del carbossile;
- R_3 è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;
- n è un numero scelto tra 0, 1, 2;

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

Nella formula sopra indicata, ed in generale in tutte le formule che verranno indicate, il segno

~~~~~

sta ad indicare un legame che può essere sopra o sotto il piano della pagina.



In generale, per adatto gruppo protettivo dell'ammina o adatto gruppo protettivo del carbossile si intende un gruppo protettivo come riportato negli esempi seguenti, come noto al tecnico medio del settore e come riportato nella letteratura tecnica e nei cataloghi commerciali.

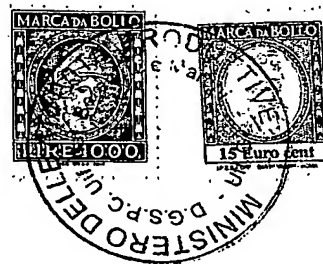
In particolare, esempi di gruppi protettivi opportuni sono esteri alchilici o benzilici.

Come gruppo alchilico inferiore si intende un gruppo alchilico  $C_1-C_4$ , per esempio metile, etile, propile, butile e tutti i possibili isomeri, ma anche alchili superiori sono possibili, a patto che siano compatibili con le condizioni di reazione.

I composti di formula (I) hanno una struttura azabiccicloalcanica e sono caratterizzati dalla presenza di un sostituito sull'atomo di carbonio in posizione 3. Questo sostituito è in grado di ridurre i gradi conformazionali della molecola ed inoltre, se ad esempio di natura alchilica, può conferire caratteristiche di maggiore idrofobicità alla molecola, così come, se provvisto di opportuno gruppo funzionale, ad esempio un ossidrile, può fungere da "legante" per frammenti o molecole diverse provviste, ad esempio, di attività farmacologica.

Secondo il presente trovato, i composti preferiti di formula generale (I) sono i seguenti:

- $n$  è scelto uguale ad 1,  $R_3$  è scelto uguale a benzile;
- $n$  è scelto uguale ad 1,  $R_3$  è scelto uguale ad allile;
- $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale a benzile;
- $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale ad allile;
- $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale a metile.



Oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione di composti aventi la formula generale (I). In particolare, con riferimento alla Figura 1, che riporta uno schema generico di sintesi dei composti di formula (I), il



*Federica Trupiano*

procedimento comprende le seguenti fasi:

- formazione, in adatte condizioni di reazione, del carbanione in posizione 3 a partire dal composto (Ia) o da un suo adatto derivato,
- alchilazione del carbanione con ottenimento del composto di formula generale (I).

Nel caso dello schema di Figura 1, i sostituenti sono definiti come segue:

- $R_1$  è scelto tra idrogeno, alchile inferiore, adatto gruppo protettivo dell'ammina;
- $R_2$  è scelto tra idrogeno, adatto gruppo protettivo del carbossile;
- $R_3$  è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;
- $n$  è un numero scelto tra 0, 1, 2;

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

In particolare, a solo titolo esemplificativo, viene riportato in Figura 1a uno schema di procedimento per la preparazione di composti di formula generale (I) dove  $R_1$  è il gruppo Cbz (carbobenzilossi), mentre  $R_2$ ,  $n$  ed  $R_3$  sono definiti come sopra. In questo caso, il procedimento prevede le seguenti fasi:

- reazione di deprotezione chemoselettiva dell'atomo di azoto in posizione 3 del composto di formula generale (Ib) e formazione della immina corrispondente, di formula generale (Ic);
- deprotonazione in posizione 3 del composto di formula generale (Ic) con formazione del corrispondente enolato, reazione di alchilazione del suddetto enolato, reazione di riduzione del doppio legame imminico con ottenimento del composto di formula generale (Id).

In questo caso, il procedimento per la preparazione dei composti di formula generale

Federica Trupiano

(I) e, nel caso dell'esempio specifico, dei composti di formula generale (Id), prevede la reazione di alchilazione stereoselettiva dell'enolato dei composti di formula (Ic). I prodotti di partenza impiegati nel procedimento sopra descritto, sono preparati secondo metodiche già note in letteratura, ad esempio come descritto in EP 1 077 218, Angiolini, M.; Araneo, S.; Belvisi, L.; Cesarotti, E.; Checchia, A.; Crippa, L.; Manzoni, L.; Scolastico, C. *Eur. J. Org. Chem.* 2000, 2571-2581; Manzoni, L.; Colombo, M.; May, E.; Scolastico, C. *Tetrahedron* 2001, 57, 249; ).

Nelle Figure 2 e 3 è riportato a solo titolo esemplificativo lo schema del processo di cui alla Figura 1a dove il sostituente R2 è scelto uguale a tBu. In questo caso sono riportate in dettaglio le condizioni di reazione per i singoli passaggi effettuati e i prodotti ottenuti a seconda del tipo di agente alchilante impiegato. La Figura 2 fa riferimento al procedimento per l'ottenimento del prodotto "trans" mentre la Figura 3 fa riferimento al procedimento per l'ottenimento del prodotto "cis". La sintesi dei prodotti numerati da 3 a 20 e riportati nelle Figure 2 e 3 è stata realizzata secondo quanto già schematizzato in Figura 1. In particolare, i lattami biciclici di partenza sono stati chemoselettivamente deprotetti per mezzo di una idrogenazione a pressione atmosferica usando Pd/C, le ammine ottenute sono state trasformate nelle corrispondenti basi di Shiff per trattamento con benzaldeide in presenza di trietilammina e MgSO<sub>4</sub>. L'alchilazione stereoselettiva dell'enolato dell'ammide della base di Shiff porta ai corrispondenti alchil derivati che successivamente sono stati ridotti con NaBH<sub>4</sub> a dare i lattami 3-20.

Come riportato in letteratura le reazioni di alchilazione dipendono da una serie di fattori come solvente, controllo, temperatura; tutti parametri che influenzano enormemente sia le rese che il decorso stereochimico della reazione.

Le condizioni di reazione, le rese e la stereochimica della reazione di alchilazione in



posizione C3 sono, come già detto, illustrate nelle Tabelle (Figure 2 e 3). La stereochimica degli stereocentri che si formano nel corso della reazione è stata determinata mediante esperimenti NOE e raggi X e sarà riportata in dettaglio negli esempi relativi alla parte sperimentale che segue.

Sempre con riferimento ai composti di formula generale (I), nel caso in cui il sostituito  $R_3$  è scelto uguale ad allile, è possibile effettuare una ulteriore trasformazione del sostituito allilico in generale in un gruppo ossidrilico ad esempio mediante reazione di idroborazione. In particolare, si possono ottenere gruppi idrossipropile o idrossietile. Nel primo caso, il gruppo idrossipropile viene ottenuto per reazione di idroborazione e decomposizione, ad esempio con  $H_2O_2$  alcalina, mentre nel secondo caso il gruppo idrossietile viene ottenuto ad esempio per ozonolisi riduttiva del doppio legame.

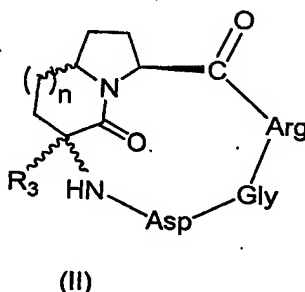
In Figura 4 è riportato, a titolo esemplificativo, uno schema completo delle condizioni di reazione, per la trasformazione del gruppo allile in posizione 3 in gruppo idrossietile a partire dal composto 5 dove, rispetto alla formula generale (I) i sostituenti sono così selezionati:  $n$  è scelto uguale a 1,  $R_3$  è scelto uguale ad allile,  $R_2$  è scelto uguale a  $tBu$ ,  $R_1$  è scelto uguale a  $CH_2Ph$ .

Sempre nel caso in cui il gruppo  $R_3$  sia scelto uguale ad allile, è possibile effettuare la trasformazione in altri derivati a seconda della compatibilità tra la struttura generale della molecola e le condizioni di reazione richieste per la trasformazione.

I composti di formula (I) sono vantaggiosamente impiegati come intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici a ridotta libertà conformazionale.

I composti di formula generale (I), secondo la presente invenzione, vengono impiegati come intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici biologicamente attivi, in particolare nella sintesi di composti peptido-mimetici ciclici comprendenti la

sequenza RGD (Arg-Gly-Asp) (Arginina, Glicina, Acido Aspartico) di formula generale (II) come qui di seguito riportata:



dove:

- $R_3$  è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;
- $n$  è un numero scelto tra 0, 1, 2;

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

Nella formula sopra indicata, ed in generale in tutte le formule che verranno indicate, il segno



sta ad indicare un legame che può essere sopra o sotto il piano della pagina.

Come gruppo alchilico inferiore (alchile inferiore) si intende un gruppo alchilico  $C_1-C_4$ , per esempio metile, etile, propile, butile e tutti i possibili isomeri, ma anche alchili superiori sono possibili, a patto che siano compatibili con le condizioni di reazione.

I composti di formula (II) sono sintetizzati, a partire dai composti di formula (I), secondo un procedimento generale che comprende le seguenti fasi:



- reazione di deprotezione chemoselettiva del gruppo carbossilico del composto di formula generale (I) e condensazione con il dipeptide Arg-Gly opportunamente protetto e preventivamente preparato;
- reazione di protezione chemoselettiva del gruppo amminico dell'azabicycloalcano mediante idrogenazione catalitica e successiva condensazione con acido aspartico opportunamente protetto;
- trasformazione del metilestere della glicina in benzil estere mediante reazione di transesterificazione seguita dalla contemporanea rimozione del gruppo protettivo della glicina e del gruppo amminico dell'aspartico mediante idrogenazione catalitica;
- ciclizzazione intramolecolare mediata da condensanti e successiva deprotezione dei gruppi protettivi delle catene laterali degli ammino acidi.

In particolare in Figura 5 è riportato un esempio di procedimento per la preparazione di un composto peptido-mimetico comprendente la sequenza RGD secondo il presente trovato di formula (II), dove  $R_3$  è scelto uguale a  $CH_2Ph$  ed  $n$  è scelto uguale a 1, con ottenimento del composto indicato con 28. Nel suddetto procedimento, si parte dal composto di formula (I) dove  $R_3$  è scelto uguale a  $CH_2Ph$ ,  $n$  è scelto uguale a 1,  $R_1$  è scelto uguale a  $CH_2Ph$ ,  $R_2$  è scelto uguale a  $tBu$  (composto 3). Sempre in Figura 5 sono anche riportati i vari reagenti impiegati nelle varie fasi del procedimento e le corrispondenti condizioni di reazione. In questo caso lo schema di sintesi è esemplificato per un solo diastereoisomero, ma resta inteso che analogamente il procedimento è esteso alla totalità dei composti oggetto del presente trovato.

Sempre secondo la presente invenzione, i composti preferiti scelti tra quelli di formula generale (II) sono i seguenti:



- a) quando  $n$  è scelto uguale ad 1 ed  $R_3$  è scelto uguale a benzile
- b) quando  $n$  è scelto uguale a 2 ed  $R_3$  è scelto uguale a benzile.

In Figura 6 sono riportati i composti di formula generale (II) più rappresentativi.

In particolare, secondo il presente trovato, il composto più significativo, qui di seguito riportato, ha la formula indicata con il numero 26, sempre con riferimento alla Figura 6 di cui sopra.

I composti di formula generale (II) secondo il presente trovato mostrano attività biologica come inibitori delle integrine, ed in particolare risultano inibitori selettivi per le integrine  $\alpha v\beta 3$  e  $\alpha v\beta 5$ . I composti di formula (II) saranno quindi impiegati come farmaci inibitori dell'angiogenesi, ad esempio nel trattamento delle patologie di origine tumorale, come nel caso di processi tumorali metastatizzati, retinopatie, danni renali acuti ed osteoporosi.

Con riferimento all'attività dei composti di formula generale (II) nei confronti delle integrine  $\alpha v\beta 3$  e  $\alpha v\beta 5$ , in Figura 7 sono riportati i risultati relativi alle prove biologiche effettuate per valutare le proprietà di binding dei suddetti composti nei confronti dei suddetti recettori  $\alpha v\beta 3$  e  $\alpha v\beta 5$ . Le prove sono state condotte secondo le modalità della tecnica nota, in particolare secondo quanto descritto in EP 1077218, ad esempio alle pagine 10-14.

La presenza di un sostituito arilico/alchilico in posizione 3 sui composti di formula generale (II) secondo il presente trovato, conferisce al composto peptido-mimetico una maggiore rigidità conformazionale, grazie anche alle interazioni steriche tra sostituito e struttura ciclica, che possono favorire l'interazione tra il composto ed il recettore. I composti secondo il presente trovato, quando impiegati come farmaci, potranno così più facilmente raggiungere i tessuti che sovraesprimono certi recettori (ad esempio cellule epiteliali coinvolte nella crescita vascolare) ed esplicare così la



loro attività farmacologica.

I composti secondo la presente invenzione possono quindi essere visti come "scaffolds" conformazionalmente costretti, con la potenzialità di replicare la geometria dello scheletro e delle catene laterali di un residuo dipeptidico nel sito attivo. La sequenza di amminoacidi selezionata ed inserita nella struttura dei composti in oggetto, può essere utilizzata come entità conformazionalmente costretta che mima segmenti di peptidi naturali. Alternativamente, le catene laterali funzionalizzate possono essere utilizzate come sito per l'introduzione di gruppi rilevanti dal punto di vista farmacologico, ad esempio per aumentare le interazioni proteina-proteina o proteina-recettore.

Un'altra applicazione possibile per i composti di formula generale (II) è il loro impiego come induttori di "reverse-turn" e, come già detto, come "scaffolds" per la sintesi di composti biologicamente attivi.

Sempre secondo il presente trovato, i composti di formula (II) sono anche impiegati come mediatori per il trasporto ed il rilascio di farmaci. Ad esempio, dal momento che essi stessi mostrano attività di inibitori dell'angiogenesi, potranno vantaggiosamente essere coniugati ad un composto provvisto di attività farmacologica del tipo citotossico, in modo da consentire la somministrazione contemporanea di due diversi principi attivi (nel caso esemplificato un citotossico ed un antiangiogenesi). Il composto addizionale può essere legato al composto di formula (II) in modo convenzionale, ad esempio attraverso gruppi reattivi disponibili per la formazione di un legame chimico. Il rilascio del composto addizionale ad attività farmacologica avverrà in situ in condizioni fisiologiche. In particolare, nel caso dei composti di formula (II) definiti come sopra, il gruppo più adatto per la reazione ulteriore con un composto addizionale è  $R_3$  scelto uguale a idrossietile o idrossipropile.



In alcuni casi, anche il composto di formula (I) può essere impiegato, tramite il gruppo R<sub>3</sub> opportunamente selezionato, ad esempio come idrossietile o idrossipropile, per l'associazione ad un composto farmacologicamente attivo, prima della sua trasformazione in composto peptido-mimetico di formula generale (II). In questo caso è però necessario che lo schema di reazione che coinvolge l'intermedio di formula (I) a dare il composto di formula (II) sia compatibile con la presenza del composto addizionale farmacologicamente attivo legato alla struttura principale tramite il sostituito R<sub>3</sub>.

Oggetto della presente invenzione sono le composizioni farmaceutiche che comprendono una dose efficace, dal punto di vista terapeutico e/o di profilassi, di almeno un composto di formula (II) in miscela con veicoli e/o eccipienti accettabili dal punto di vista farmaceutico.

Le composizioni farmaceutiche di cui sopra sono impiegate come inibitori delle integrine, ed in particolare inibitori selettivi per le integrine  $\alpha v\beta 3$  e  $\alpha v\beta 5$ . Le composizioni farmaceutiche comprendenti almeno un composto di formula (II) sono quindi impiegate come farmaci inibitori dell'angiogenesi, ad esempio nel trattamento delle patologie di origine tumorale, come nel caso di processi tumorali metastatizzati, retinopatie, danni renali acuti ed osteoporosi.

La presente invenzione sarà descritta in dettaglio con l'ausilio degli esempi qui di seguito riportati, dati a solo titolo esplicativo e non limitativo dell'ambito di protezione del trovato.

**Osservazioni Generali:** Gli spettri  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR sono stati registrati in  $\text{CDCl}_3$  (or  $\text{D}_2\text{O}$ ) come indicato, a 200 (or 300, 400) and 50.3 (or 75.4) MHz, rispettivamente. I valori di chemical shift sono indicati in ppm e le costanti di accoppiamento in Hz. — I poteri ottici rotatori sono misurati con un polarimetro Perkin-Elmer modello 241. —







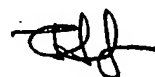
Cromatografia su strato sottile (TLC) è eseguita utilizzando lastre Merck F-254. Cromatografia flash è eseguita utilizzando gel di silice Macherey-Nagel 60, 230-400 mesh. I solventi sono anidrificati in accordo alle procedure standard e le reazioni che richiedono condizioni anidre sono condotte in atmosfera di azoto o argon. Le soluzioni contenenti i prodotti finali sono anidificate con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrate, e concentrate sotto pressione ridotta utilizzando un evaporatore rotante.

Per "lattame" si intende il composto di formula generale (I) in tutte le sue forme di possibile sostituzione, per "pseudopeptide" si intende un composto di formula generale (II) in tutte le sue forme di possibile sostituzione.

#### ESEMPIO 1

##### **Procedura generale A: Preparazione dell' immina.**

Una soluzione di lattami protetti come carbobenzilossi derivati (1.07 mmol) (composto (Ia) nel quale  $R_1$  è scelto uguale a Cbz) in MeOH (11 ml) contenente una quantità catalitica di Pd/C 10%, è agitata tutta notte in atmosfera di idrogeno. Il catalizzatore viene poi rimosso attraverso una filtrazione su Celite e lavato con MeOH. Il solvente è evaporato sotto pressione ridotta. Il prodotto grezzo è sciolto in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (11 ml) e TEA anidra (299  $\mu\text{l}$ , 2.14 mmol); vengono poi aggiunti  $\text{MgSO}_4$  (64 mg) e benzaldeide precedentemente distillata. Dopo 24 ore a temperatura ambiente la miscela è filtrata su Celite e lavata con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Il solvente è rimosso sotto pressione ridotta alla quantità iniziale, quindi si aggiunge la stessa quantità di esano. La soluzione organica lavata con  $\text{NaHCO}_3$  saturo (2x20 ml), acqua (2x20 ml) e salamoia (2x20 ml) è quindi anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporata sotto pressione ridotta. Il grezzo (90-95% su 2 passaggi, solido bianco) è utilizzato senza ulteriore purificazione.



**Procedura generale B: Alchilazione dell'immina.**

Ad una soluzione di immina (0.2 mmol) in THF anidro (2 ml) in atmosfera di argon, raffreddata a  $-78^{\circ}\text{C}$ , viene aggiunta la base (0.3 mmol) e la temperatura viene regolata secondo le indicazioni esposte in Tabella (Figura 2 e 3). Dopo 20 minuti viene aggiunto allil, benzil bromuro o iodometano (0.4 mmol) e la soluzione viene agitata 3-5 ore. Si aggiunge acqua (2 ml) e la miscela è estratta con AcOEt (3×2 ml). Le fasi organiche riunite vengono anidrificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporate sotto pressione ridotta. Al grezzo sciolto in MeOH (4 ml) viene aggiunto  $\text{NaBH}_4$  (2 mmol) in piccole porzioni. Il solvente è evaporato a pressione ridotta ed il grezzo è purificato per cromatografia flash (Esano/AcOEt 7:3).

**Procedura generale C: Alchilazione dell'immina in presenza di DMPU.**

Ad una soluzione di immina (0.2 mmol) in THF anidro (2 ml) e DMPU (5 mmol) in atmosfera di argon, raffreddata a  $-78^{\circ}\text{C}$ , è aggiunta la base (0.3 mmol) e la temperatura viene regolata secondo quanto esposto in Tabella (Figura 2 e 3). Dopo 20 minuti viene aggiunto allil, benzil bromuro o iodometano (0.4 mmol) e la soluzione viene agitata 3-5 ore. Dopo l'aggiunta di acqua (2 ml) la miscela è estratta con AcOEt (3×2 ml). Le fasi organiche riunite sono anidrificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporate sotto pressione ridotta. Al grezzo sciolto in MeOH (4 ml) è aggiunto  $\text{NaBH}_4$  (2 mmol) in piccole porzioni. Dopo evaporazione a pressione ridotta il grezzo è purificato per cromatografia flash (Esano/AcOEt 7:3).

**Procedura generale D: Alchilazione dell'immina in presenza di un sale chelante.**

Alla soluzione di immina (0.2 mmol) in THF anidro (2 ml) in atmosfera di argon, raffreddata a  $-78^{\circ}\text{C}$ , è aggiunta la base (0.3 mmol) e la temperatura viene regolata



come mostrato in Tabella (Figura 2 e 3). Dopo 20 minuti si aggiunge l'acido di Lewis ( $\text{MgBr}_2 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  or  $\text{SnCl}_2$ ) (0.6 mmol) e dopo altri 20 minuti all'il, benzil bromuro o iodometano (0.4 mmol) lasciando la soluzione sotto agitazione per 3-5 ore. Si aggiunge acqua (2 ml) e la miscela è estratta con  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 2$  ml). Le fasi organiche riunite sono anidrificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporate sotto pressione ridotta. Al grezzo sciolto in  $\text{MeOH}$  (4 ml) è aggiunto  $\text{NaBH}_4$  (2 mmol) in piccole porzioni. Il solvente è evaporato a pressione ridotta ed il grezzo purificato per cromatografia flash ( $\text{Esano}/\text{AcOEt}$  7:3).

Analogamente sono stati preparati i composti da 3 a 20 di cui alle Figure 2 e 3 e dei quali si riportano qui di seguito i dati analitici.

Lattame 3:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -107.1$  ( $c = 1.05$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.51 (m, 1H), 1.03 (m, 1H) 1.49 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.61-2.2 (5H), 2.31 (m, 1H), 2.81, 3.26 (2 d, 2H,  $J = 12.8$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.60 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 3.74, 3.80 (2 d, 2H,  $J = 11.6$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.41 (dd, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 8.6$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.19-7.40 (10H,  $\text{Ph}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.7, 172.0, 140.7, 137.4, 130.4, 128.8, 128.6, 128.3, 127.1, 126.9, 81.5, 62.6, 59.9, 59.7, 48.2, 47.2, 33.5, 29.3, 28.3, 28.2, 26.6.  $\text{FAB}^+\text{MS}$ : calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$  434.26, trovato 435  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.62, H 7.89, N 6.45; trovato C 74.50, H 7.98, N 6.32.

Lattame 4:  $\text{pf} = 104-106^\circ\text{C}$ .  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -37.0$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.51 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.65-2.12 (7H), 2.26 (m, 1H), 2.98, 3.23 (2 d, 2H,  $J = 13.1$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.43 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 3.72, 3.84 (2 d, 2H,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.41 (dd, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 8.6$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.20-7.37 (10H,  $\text{Ph}$ ).




$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.9, 171.6, 137.03, 131.2, 128.5, 128.4, 128.2, 127.1, 126.6, 81.4, 61.0, 60.1, 59.5, 48.2, 44.7, 33.3, 30.5, 28.2, 28.1, 27.1. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$  434.26, trovato 435  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.62, H 7.89, N 6.45; trovato C 74.77, H 7.79, N 6.35.

Lattame 5: pf = 75-77°C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -71.8$  ( $c = 0.99$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.47 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.50 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 1.88-2.19 (4H), 2.22-2.55 (4H), 3.68, 3.78 (2 d, 2H,  $J = 11.7$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 3.74 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.40 (dd, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 8.6$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 5.10 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.87 (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 7.16-7.43 (5H,  $\text{Ph}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.7, 133.4, 130.9, 128.7, 128.4, 127.1, 118.7, 111.1, 81.4, 61.6, 60.1, 59.1, 48.1, 45.3, 44.1, 33.2, 29.7, 29.2, 28.0, 26.5. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$  384.24, trovato 385  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 71.84, H 8.39, N 7.29; trovato C 71.99, H 8.21, N 7.36.

Lattame 6:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -37.3$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.47 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.50 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.89-2.06 (3H), 2.18 (m, 1H), 2.26-2.43 (3H), 2.54 (m, 1H), 3.61 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 3.61, 3.70 (2 d, 2H,  $J = 11.7$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.43 (dd, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 8.6$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 5.11 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.90 (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 7.20-7.34 (5H,  $\text{Ph}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.9, 171.3, 140.4, 134.0, 129.1, 128.7, 128.3, 128.0, 126.9, 118.7, 81.3, 60.0, 59.7, 59.4, 51.1, 48.2, 45.3, 33.2, 30.4, 28.1, 28.0, 27.8. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$  384.24, trovato 385  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 71.84, H 8.39, N 7.29; trovato C





71.89, H 8.18, N 7.16.

Lattame 7:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +36.4$  ( $c = 1.11$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.44 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.49 (m, 3H), 1.58-1.72 (3H), 1.80-1.97 (2H), 2.12 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 2.92, 3.54 (2 d, 2H,  $J = 14.1$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.96, 4.04 (2 d, 2H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.55 (dd, 1H,  $J = 8.4$  Hz,  $J = 3.7$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 4.84 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 7.15-7.50 (10H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.5, 171.6, 141.0, 138.4, 131.5, 131.2, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.0, 127.1, 126.3, 81.0, 64.0, 62.7, 57.6, 47.7, 40.3, 35.7, 33.1, 32.7, 29.9, 28.3, 26.9, 23.0. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$  448.27, trovato 449  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.97, H 8.09, N 6.24; trovato C 74.88, H 7.99, N 6.33.

Lattame 8:  $\text{pf} = 113-114^\circ\text{C}$ .  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -20.1$  ( $c = 1.06$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.49 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.64-1.78 (3H), 1.78-1.96 (4H), 2.12 (m, 1H), 2.38 (m, 2H), 2.92, 3.13 (2 d, 2H,  $J = 13.6$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.61, 3.70 (2 d, 2H,  $J = 12.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.14 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.55 (dd, 1H,  $J = 8.3$  Hz,  $J = 2.0$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.17-7.43 (10H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.3, 172.1, 141.8, 136.4, 131.6, 128.3, 128.2, 127.9, 126.6, 81.2, 65.8, 62.3, 57.1, 48.1, 44.6, 34.4, 32.5, 32.2, 28.2, 26.5, 22.6. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$  448.27, trovato 449  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.97, H 8.09, N 6.24; trovato C 75.18, H 8.00, N 6.13.

Lattame 9:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +14.9$  ( $c = 1.04$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.41 (s,



9H, COOtBu), 1.44-2.34 (10H, CH<sub>2</sub>), 2.43, 2.87 (2 dd, 2H, J = 14.4 Hz, J = 7.3 Hz, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 3.73 (2 d, 2H, J = 12.7 Hz, NH-CH<sub>2</sub>-Ph), 4.49 (dd, 1H, J = 8.3 Hz, J = 4.4 Hz, CH-COOtBu), 4.79 (m, 1H, CO-N-CH), 5.16 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 5.86 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 7.20-7.40 (5H, Ph). <sup>13</sup>C NMR (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 174.4, 171.4, 141.1, 134.5, 128.7, 128.3, 126.8, 118.7, 111.4, 80.7, 67.0, 62.8, 62.5, 58.5, 57.5, 47.1, 44.7, 40.3, 35.5, 33.1, 29.7, 28.0, 26.8, 22.7. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 398.26, trovato 399 [M+1]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C 72.33, H 8.60, N 7.03; trovato C 72.48, H 8.41, N 7.16.

Lattame 10: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -54.0 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.45 (s, 9H, COOtBu), 1.63-1.98 (8H, CH<sub>2</sub>), 2.12, 2.29 (2 m, CH<sub>2</sub>), 2.49, 2.58 (2 m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 3.68, 3.73 (2 d, 2H, J = 11.6 Hz, NH-CH<sub>2</sub>-Ph), 4.07 (m, 1H, CO-N-CH), 4.53 (dd, 1H, J = 8.3 Hz, J = 3.8 Hz, CH-COOtBu), 5.14 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 5.88 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 7.26, 7.42 (2 m, 5H, Ph). <sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 171.8, 135.0, 128.6, 128.4, 128.3, 126.9, 118.9, 81.3, 63.1, 57.7, 48.2, 48.0, 35.2, 34.8, 32.8, 32.3, 29.9, 28.2, 26.5, 22.6. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 398.26, trovato 399 [M+1]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C 72.33, H 8.60, N 7.03; trovato C 72.26, H 8.54, N 6.93.

Lattame 11: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -22.1 (c = 1.04, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 9H, COOtBu), 1.50-2.32 (10H, CH<sub>2</sub>), 3.72, 3.76 (2 d, 2H, J = 11.5 Hz, NH-CH<sub>2</sub>-Ph), 4.47 (dd, 1H, J = 7.8 Hz, J = 5.7 Hz, CH-COOtBu), 4.56 (m, 1H,



CO-N-CH), 7.20-7.40 (5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  175.9, 171.6, 128.7, 128.3, 126.8, 80.7, 62.7, 61.4, 57.8, 47.7, 35.2, 34.9, 33.4, 29.7, 28.0, 26.8, 26.1, 22.4. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$  372.24, trovato 373  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 70.94, H 8.66, N 7.52; trovato C 71.10, H 8.44, N 7.45.

Lattame 12:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -50.8$  ( $c = 1.05$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.47 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.68-2.02 (8H,  $\text{CH}_2$ ), 2.16, 2.29 (2 m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.57 (sb, 1H, NH), 3.69, 3.75 (2 d, 2H,  $J = 11.4$  Hz, NH- $\text{CH}_2$ -Ph), 4.00 (m, 1H, CO-N-CH), 4.55 (dd, 1H,  $J = 8.2$  Hz,  $J = 4.5$  Hz, CH- $\text{COOtBu}$ ), 7.20-7.48 (5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  175.9, 171.8, 141.2, 128.8, 128.4, 126.9, 81.1, 63.4, 62.7, 58.4, 48.6, 35.3, 34.5, 33.3, 29.9, 28.2, 26.6, 24.7, 23.5. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$  372.24, trovato 373  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 70.94, H 8.66, N 7.52; trovato C 70.88, H 8.60, N 7.59.

Lattame 13:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -114.7$  ( $c = 1.02$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.48 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.53-2.30 (8H), 2.51 (m, 1H, CHN), 2.85, 3.06 (2 d, 2H,  $J = 12.6$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.80 (s, 2H,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.24 (dd, 1H,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 1.7$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.15-7.43 (10H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.7, 171.7, 140.6, 136.7, 130.9, 128.9, 128.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.1, 126.9, 81.4, 61.9, 59.9, 59.7, 49.1, 47.1, 31.5, 30.2, 29.9, 28.6, 28.4, 28.2, 28.1. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$  434.26, trovato 435  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.62, H 7.89, N 6.45; trovato C 74.47, H 7.75, N 6.57.



Lattame 14:  $pf = 161-163^{\circ}C$ .  $[\alpha]_D^{22} = -35.5$  ( $c = 1.06$ ,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.51 (s, 9H,  $COOtBu$ ), 1.70-2.13 (8H), 2.98, 3.10 (2 d, 2H,  $J = 14.0$  Hz,  $PhCH_2C$ ), 3.57 (m, 1H,  $CHN$ ), 3.61, 3.68 (2 d, 2H,  $J = 12.5$  Hz,  $PhCH_2NH$ ), 4.35 (dd, 1H,  $J = 9.0$  Hz,  $J < 1$  Hz,  $CHCOOtBu$ ), 7.20-7.33 (10H,  $Ph$ ).  $^{13}C$  NMR (75.4 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  173.1, 171.4, 140.8, 136.8, 131.2, 130.8, 128.7, 128.2, 128.1, 127.8, 126.7, 126.4, 81.1, 62.2, 60.5, 59.7, 59.0, 48.0, 44.6, 31.8, 29.7, 28.8, 28.6, 28.3, 28.0, 26. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $C_{27}H_{34}N_2O_3$  434.26, trovato 435  $[M+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $C_{27}H_{34}N_2O_3$ : C 74.62, H 7.89, N 6.45; trovato C 74.67, H 7.95, N 6.28.

Lattame 15:  $[\alpha]_D^{22} = -68.7$  ( $c = 0.64$ ,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.50 (s, 9H,  $COOtBu$ ), 1.76 (m, 1H), 1.93-2.24 (7H), 2.39 (m, 2H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 3.51 (m, 1H,  $CHN$ ), 3.72, 3.78 (2 d, 2H,  $J = 11.1$  Hz,  $PhCH_2NH$ ), 4.36 (dd, 1H,  $J = 8.8$  Hz,  $J < 1$  Hz,  $CHCOOtBu$ ), 5.14 (m, 2H,  $CH=CH_2$ ), 5.78 (m, 1H,  $CH=CH_2$ ), 7.20-7.40 (5H,  $Ph$ ).  $^{13}C$  NMR (50.3 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  171.8, 134.2, 133.5, 128.9, 128.5, 127.0, 119.2, 81.4, 60.6, 60.4, 60.0, 49.0, 48.1, 45.7, 44.2, 31.8, 30.2, 29.9, 28.7, 28.6, 28.1, 26.8. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $C_{23}H_{32}N_2O_3$  384.24, trovato 385  $[M+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $C_{23}H_{32}N_2O_3$ : C 71.84, H 8.39, N 7.29; trovato C 71.72, H 8.23, N 7.46.

Lattame 16:  $[\alpha]_D^{22} = -42.9$  ( $c = 1.07$ ,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.50 (s, 9H,  $COOtBu$ ), 1.69-1.85 (2H), 1.94-2.06 (5H), 2.12 (m, 1H), 2.54 (m, 2H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 3.59 (m, 1H,  $CHN$ ), 3.62, 3.70 (2 d, 2H,  $J = 12.2$  Hz,  $PhCH_2NH$ ), 4.37







(dd, 1H,  $J = 9.4$  Hz,  $J < 1$  Hz,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 5.11 (m, 2H,  $\text{CH=CH}_2$ ), 6.00 (m, 1H,  $\text{CH=CH}_2$ ), 7.20-7.40 (5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  171.3, 133.6, 129.5, 129.0, 128.7, 128.6, 127.4, 119.0, 81.5, 61.5, 60.7, 60.3, 59.3, 52.3, 48.0, 43.9, 31.9, 29.9, 28.7, 28.1, 26.7. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$  384.24, trovato 385  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 71.84, H 8.39, N 7.29; trovato C 71.95, H 8.29, N 7.39.

Lattame 17:  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.49 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.53-2.25 (10H), 3.22, 3.83 (2 d, 2H,  $J = 14.0$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.98, 4.05 (2 d, 2H,  $J = 11.9$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.30 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.47 (m, 1H,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.13-7.45 (10H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.8, 171.6, 142.0, 138.6, 131.9, 129.9, 128.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 127.0, 126.1, 125.3, 81.5, 64.2, 62.4, 57.3, 47.5, 40.2, 35.9, 33.9, 32.7, 29.8, 28.2, 26.5, 23.0. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$  448.27, trovato 449  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 74.97, H 8.09, N 6.24; trovato C 74.77, H 8.01, N 6.39.

Lattame 18:  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.51 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.60-2.41 (10H), 3.10, 3.65 (2 d, 2H,  $J = 13.9$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{C}$ ), 3.71, 3.79 (2 d, 2H,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{NH}$ ), 4.18 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.65 (m, 1H,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 7.20-7.48 (10H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.0, 172.0, 141.5, 136.3, 131.0, 128.4, 128.2, 127.9, 126.0, 81.3, 65.5, 62.0, 57.2, 48.2, 44.8, 34.9, 32.3, 32.0, 28.2, 26.3, 22.5. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$  448.27, trovato 449  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3$ : C



74.97, H 8.09, N 6.24; trovato C 75.02, H 8.15, N 6.10.

Lattame 19:  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.45 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.48-2.80 (12H), 3.75, 3.82 (2 d, 2H,  $J = 12.1$  Hz,  $\text{NH-CH}_2\text{-Ph}$ ), 4.39 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.62 (m, 1H,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 5.21 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ), 5.89 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ), 7.15-7.42 (5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.0, 171.4, 141.3, 134.6, 128.5, 128.3, 126.9, 118.8, 111.1, 80.2, 67.2, 62.6, 63.5, 59.5, 58.5, 47.3, 44.6, 41.3, 35.4, 33.0, 29.8, 28.0, 26.6, 22.2. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$  398.26, trovato 399  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 72.33, H 8.60, N 7.03; trovato C 72.28, H 8.74, N 7.19.

Lattame 20:  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.49 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.58-2.68 (12H), 3.58, 3.69 (2 d, 2H,  $J = 11.8$  Hz,  $\text{NH-CH}_2\text{-Ph}$ ), 4.15 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.58 (m, 1H,  $\text{CHCOOtBu}$ ), 5.10 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ), 5.82 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ), 7.20-7.45 (5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  172.0, 134.9, 128.3, 128.2, 128.1, 126.9, 118.8, 81.0, 62.9, 57.9, 49.2, 48.8, 35.6, 34.8, 33.0, 32.0, 30.0, 28.0, 26.4, 22.2. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$  398.26, trovato 399  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$ : C 72.33, H 8.60, N 7.03; trovato C 72.42, H 8.79, N 6.86.

## ESEMPIO 2

**Procedura generale E: Sintesi dei peptici ciclici contenenti la sequenza RGD di formula generale (II).**

I lattami biciclici di formula generale (I) (1 mmol) sono trattati a temperatura ambiente



con una miscela di  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (3.8 ml) e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml) per rimuovere il gruppo *tert*-butile. Dopo l'evaporazione il residuo è ripreso con THF anidro (6 ml) al quale è aggiunta 4-metil morfolina (0.55 ml). Alla soluzione raffreddata a  $-30^\circ\text{C}$  viene lentamente aggiunto isobutil cloroformiato (0.17 ml). Alla sospensione agitata per 30 minuti a  $-30^\circ\text{C}$ , viene quindi aggiunta una soluzione di H-Arg(Pmc)-Gly-OMe (1.29 g) in THF anidro (4 ml). La miscela si lascia riscaldare fino a temperatura ambiente e si lascia a questa temperatura per una notte. Dopo filtrazione su Celite per eliminare i sali insolubili, il grezzo è purificato per cromatografia flash ottenendo gli pseudotetraeptidi (88-98% su 2 passaggi). Gli pseudotetraeptidi (1 mmol) sono sciolti in MeOH (10 ml) ed idrogenati a pressione atmosferica utilizzando una quantità catalitica di Pd/C 10% per eliminare il gruppo N-benzile. Il catalizzatore è rimosso mediante filtrazione su Celite ottenendo, dopo evaporazione a pressione ridotta, le corrispondenti ammine. Alla soluzione di Z-Asp(tBu)-OH (648 mg) in THF anidro (10 ml), viene aggiunta 4-metil morfolina (0.77 ml) e lentamente a  $-30^\circ\text{C}$  isobutil cloroformiato (0.29 ml). Dopo 30 minuti a questa temperatura si aggiunge una soluzione di ammina (1 mmol) in THF anidro (10 ml), e la miscela è lentamente portata a temperatura ambiente ed agitata tutta notte. I sali insolubili vengono rimossi per filtrazione su Celite e dopo evaporazione il residuo viene purificato per cromatografia flash ottenendo gli pseudopentapeptidi (o derivati peptido-mimetici) (71-88% su 2 passaggi). Alla soluzione di questi peptidi (1 mmol) in THF anidro (10 ml), vengono aggiunti alcol benzilico (10.3 ml), setacci molecolari (2 g),  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$  (0.07 ml) e la miscela viene riscaldata all'ebollizione per 5 giorni. I residui insolubili vengono eliminati attraverso filtrazione su Celite e, dopo evaporazione del solvente, il residuo si riprende con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; si lava con HCl 2N e si purifica per cromatografia flash ottenendo gli pseudopentapeptidi (79-94%). L'idrogenazione degli




pseudopentapeptidi (1 mmol) in MeOH (10 ml) con una quantità catalitica di Pd/C 10% è necessaria per rimuovere contemporaneamente i gruppi Cbz e benzile. Dopo filtrazione su Celite per eliminare il catalizzatore e l'evaporazione del solvente, gli pseudopentapeptidi deprotetti sono sciolti in DMF (1000 ml) ed il sistema condensante di Carpino [HATU (760 mg), HOAt (272 mg), 2,4,6-collidina (0.26 ml)] è utilizzato per la ciclizzazione. Dopo 48-72 ore il solvente viene evaporato a pressione ridotta, il residuo ripreso con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , è lavato con  $\text{NaHCO}_3$  saturo e  $\text{KHSO}_4$  1M. Dopo evaporazione il residuo è purificato per cromatografia flash ottenendo pseudopentapeptidi ciclici 22-25 (64-78% su 2 passaggi). La deprotezione delle catene laterali è condotta trattando gli pseudopentapeptidi ciclici (1 mmol) con  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (330 ml) in presenza di scavenger di ioni. Dopo evaporazione il residuo è sciolto in acqua e lavato con  $i\text{Pr}_2\text{O}$ . La purificazione dei prodotti grezzi viene condotta con HPLC semi-preparativo [colonna: SymmetryPrep  $\text{C}_{18}$  7 $\mu\text{m}$  (7.8x300 mm – Waters)] utilizzando un gradiente di 0-50% di MeCN in  $\text{H}_2\text{O}/0.1\%$   $\text{CF}_3\text{COOH}$ . La determinazione della purezza viene condotta con HPLC analitico [colonna: Symmetry  $\text{C}_{18}$  5 $\mu\text{m}$  (4.6x250 mm – Waters)] utilizzando lo stesso gradiente. L'eccesso di  $\text{CF}_3\text{COOH}$  viene rimosso sotto vuoto ed il trattamento con HCl gassoso permette di trasformare i trifluoroacetati in cloruri, ottenendo 26-29 (71-96% su 2 passaggi), pronti per i saggi biologici.

Dati analitici degli pseudopentapeptidi (o composti peptido-mimetici) ciclici:

Composto 22: pf = 170-172°C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -42.1$  (c = 1.01,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.31 (s, 6H,  $\text{CH}_3$  Pmc), 1.50 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.52-2.25 (16H), 2.11, 2.58, 2.60 (3 s, 9H,  $\text{CH}_3$  Pmc), 2.61 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  Pmc,  $\text{CHHCOO}^-\text{Pmc}$ ), 2.97 (dd, 1H, J





= 17.1 Hz,  $J = 4.4$  Hz,  $\text{CHHCOOtBu Asp}$ ), 3.28 (m, 4H,  $\text{CHN}$ ,  $\text{CHHPh}$ ,  $\text{CH}_2\text{NHC=NH}$ ), 3.38 (m, 1H,  $\text{CHH Gly}$ ), 3.60 (d, 1H,  $J = 12.9$  Hz,  $\text{CHHPh}$ ), 3.91 (dd, 1H,  $J = 14.0$  Hz,  $J = 5.7$  Hz,  $\text{CHH Gly}$ ), 4.12 (dd, 1H,  $J = 7.7$  Hz,  $J = 7.7$  Hz,  $\text{CHCONH lactam}$ ), 4.63 (m, 1H,  $\text{CHNH Arg}$ ), 4.77 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2\text{COOtBu Asp}$ ), 6.1-6.4 (3H,  $(\text{NH})_2\text{C=NH}$ ), 6.55 (d, 1H,  $J = 7.9$  Hz,  $\text{NH Arg}$ ), 7.0-7.3 (5H,  $\text{Ph}$ ), 7.16 (s, 1H,  $\text{NH lactam}$ ), 7.79 (dd, 1H,  $J = 9.2$  Hz,  $J$ ,  $\text{NH Asp}$ ), 8.25 (m, 1H,  $\text{NH Gly}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.0, 173.2, 171.6, 170.2, 169.8, 156.5, 153.7, 136.4, 135.7, 135.0, 130.4, 128.5, 127.2, 124.1, 118.1, 81.4, 73.8, 71.9, 71.3, 67.8, 66.0, 62.0, 52.4, 50.7, 45.6, 40.5, 35.6, 33.0, 31.9, 31.2, 30.0, 28.3, 27.0, 26.9, 25.5, 21.6, 19.5, 18.7, 18.4, 17.7, 12.3. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{47}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{S}$  934.46, trovato 935  $[\text{M}+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{47}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{S}$ : C 60.37, H 7.11, N 11.98; trovato C 60.41, H 7.21, N 11.85.

Composto 23:  $\text{pf} = 175\text{-}177^\circ\text{C}$ .  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -43.4$  ( $c = 1.03$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.32 (s, 6H,  $\text{CH}_3 \text{Pmc}$ ), 1.48 (s, 9H,  $\text{COOtBu}$ ), 1.55-2.35 (14H), 2.12, 2.58, 2.60 (3 s, 9H,  $\text{CH}_3 \text{Pmc}$ ), 2.40-2.75 (6H,  $\text{CH}_2 \text{Pmc}$ ,  $\text{CH}_2\text{COOtBu Asp}$ ), 3.22 (m, 3H,  $\text{CHH Gly}$ ,  $\text{CH}_2\text{NHC=NH}$ ), 3.51 (d, 1H,  $J = 14.2$  Hz,  $\text{CHHPh}$ ), 3.70 (m, 2H,  $\text{CHHPh}$ ,  $\text{CHH Gly}$ ), 4.19 (m, 1H,  $\text{CHNH Arg}$ ), 4.35 (m, 2H,  $\text{CHN}$ ,  $\text{CHCONH lactam}$ ), 4.98 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2\text{COOtBu Asp}$ ), 6.05-6.5 (5H,  $(\text{NH})_2\text{C=NH}$ ,  $\text{NH Arg}$ ,  $\text{NH Asp}$ ), 7.10-7.35 (5H,  $\text{Ph}$ ), 7.37 (m, 1H,  $\text{NH Gly}$ ), 8.00 (s, 1H,  $\text{NH lactam}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  174.0, 171.6, 171.2, 170.0, 169.9, 136.5, 131.3, 128.6, 127.6, 124.3, 118.3, 81.6, 73.9, 66.4, 65.5, 59.7, 50.9, 45.9, 34.8, 34.5, 32.9, 29.9, 28.2, 27.0, 23.7, 21.6, 18.7, 17.7, 12.3. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{47}\text{H}_{66}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{S}$  934.46, trovato 935



$[M+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $C_{47}H_{66}N_8O_{10}S$ : C 60.37, H 7.11, N 11.98; trovato C 60.30, H 7.09, N 12.01.

Composto **24**: pf = 178-180°C.  $[\alpha]_D^{22} = -42.2$  (c = 1.07,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  0.60 (m, 1H), 1.12 (m, 1H), 1.32 (s, 6H,  $CH_3$  Pmc), 1.38 (s, 9H,  $COOtBu$ ), 1.50-2.30 (12H), 2.10, 2.57, 2.59 (3 s, 9H,  $CH_3$  Pmc), 2.54 (m, 1H,  $CHHCOOtBu$  Asp), 2.64 (m, 3H,  $CH_2$  Pmc,  $CHHCOOtBu$  Asp), 2.86 (d, 1H, J = 12.9 Hz,  $CHHPh$ ), 3.22 (m, 1H,  $CHHNHC=NH$ ), 3.34 (m, 3H,  $CHHPh$ ,  $CHHNHC=NH$ ,  $CHH$  Gly), 3.78 (m, 1H,  $CHN$ ), 4.40 (dd, 1H, J = 9.0 Hz, J = 9.0 Hz,  $CHCONH$  lactam), 4.53 (dd, 1H, J = 14.5 Hz, J = 9.2 Hz,  $CHH$  Gly), 4.67 (m, 2H,  $CHNH$  Arg,  $CHCH_2COOtBu$  Asp), 6.1-6.4 (3H,  $(NH)_2C=NH$ ), 6.68 (m, 1H,  $NH$  Asp), 7.01 (s, 1H,  $NH$  lactam), 7.10-7.40 (5H,  $Ph$ ), 7.24 (m, 1H,  $NH$  Arg), 7.77 (m, 1H,  $NH$  Gly).  $^{13}C$  NMR (50.3 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  172.7, 171.7, 171.2, 170.9, 169.3, 156.4, 153.7, 135.7, 135.1, 133.5, 130.2, 129.0, 127.8, 124.1, 118.0, 81.8, 73.8, 66.0, 61.9, 59.8, 59.1, 52.0, 50.3, 44.8, 44.2, 40.9, 37.6, 33.2, 33.0, 30.8, 29.5, 28.6, 28.1, 27.0, 26.9, 26.8, 25.3, 21.6, 18.7, 17.6, 15.4, 12.3. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $C_{46}H_{64}N_8O_{10}S$  920.45, trovato 921  $[M+1]^+$ . Anal. elem. calc.  $C_{46}H_{64}N_8O_{10}S$ : C 59.98, H 7.00, N 12.17; trovato C 60.11, H 7.09, N 12.02.

Composto **25**: pf = 179-181°C.  $[\alpha]_D^{22} = -16.8$  (c = 1.00,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  1.33 (s, 15H,  $CH_3$  Pmc,  $COOtBu$ ), 1.38-2.50 (16H), 2.10, 2.57, 2.60 (3 s, 9H,  $CH_3$  Pmc), 2.50-2.70 (4H,  $CH_2$  Pmc,  $CH_2COOtBu$  Asp), 3.22 (m, 2H,  $CHHNHC=NH$ ,  $CHHPh$ ), 3.33 (m, 3H,  $CHHPh$ ,  $CHHNHC=NH$ ,  $CHH$  Gly), 4.41 (m,



1H, CHH Gly), 4.50 (m, 2H, CHNH Arg, CHN), 4.60 (m, 2H, CHCONH lactam, CHCH<sub>2</sub>COOtBu Asp), 6.10-6.50 (3H, (NH)<sub>2</sub>C=NH), 6.82 (s, 1H, NH lactam), 6.96 (m, 1H, NH Asp), 7.19 (d, 1H, J = 6.6 Hz, NH Arg), 7.20-7.40 (5H, Ph), 7.74 (m, 1H, NH Gly). <sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.3, 172.8, 171.4, 170.8, 169.7, 156.2, 135.8, 135.3, 130.8, 128.9, 127.5, 124.3, 118.2, 81.6, 73.9, 65.5, 64.2, 57.0, 50.4, 44.7, 41.6, 40.8, 36.7, 33.0, 32.7, 28.5, 28.1, 27.3, 27.0, 25.7, 21.6, 19.3, 18.7, 17.7, 12.3. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>47</sub>H<sub>66</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>S 934.46, trovato 935 [M+1]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. C<sub>47</sub>H<sub>66</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>S: C 60.37, H 7.11, N 11.98; trovato C 60.26, H 7.03, N 11.87.

Composto 26: purezza HPLC: 98.2%. [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -85.9 (c = 0.95, MeOH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 1.5-2.2 (13H), 2.59 (m, 1H) 2.69, 2.90 (2 dd, 2H, J = 5.9 Hz, J = 7.8 Hz, J = 17.0 Hz, CH<sub>2</sub>COOH Asp), 3.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NHC=NH Arg), 3.23, 3.46 (2 d, 2H, J = 13.7 Hz, PhCH<sub>2</sub>), 3.50, 3.91 (2 m, 2H, CH<sub>2</sub> Gly), 4.01 (m, 1H, CHN), 4.22 (dd, 1H, J = 8.0 Hz, J = 8.0 Hz, CHCONH lactam), 4.31 (m, 1H, NHCHCH<sub>2</sub> Arg), 4.79 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>COOH Asp), 6.85 (d, 1H, J = 8.4 Hz, NH Arg), 7.0, 7.26 (2 m, 5H, Ph), 7.78 (s, 1H, NH lactam). <sup>13</sup>C NMR (75.4 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 175.5, 174.3, 174.0, 172.4, 171.1, 136.5, 130.6, 129.2, 128.0, 67.8, 66.9, 59.5, 53.2, 50.9, 44.5, 41.1, 38.7, 34.2, 33.2, 30.8, 29.6, 27.1, 25.0, 22.3. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub> 648.28, trovato 613 [M-Cl]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub>: C 53.66, H 6.37, N 17.26; trovato C 53.78, H 6.45, N 17.38.

Composto 27: purezza HPLC: 99.5%. [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -54.7 (c = 1.01, MeOH). <sup>1</sup>H NMR



(400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  1.3-1.55 (3H), 1.65-2.10 (10H), 2.15 (m, 1H), 2.33-2.52 (3H) (dd, 2H,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 17.0$  Hz, CH<sub>2</sub>COOH Asp), 3.17 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NHC=NH Arg), 3.53 (m, 3H, PhCH<sub>2</sub>, CHH Gly), 3.68 (d, 1H,  $J = 13.9$  Hz, CHH Gly), 4.18 (dd, 1H,  $J = 4.7$  Hz,  $J = 11.0$  Hz, NHCHCH<sub>2</sub> Arg), 4.33 (m, 2H, CHN, CHCONH lactam), 4.88 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>COOH Asp), 7.15, 7.32 (5H, Ph). <sup>13</sup>C NMR (75.4 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  175.1, 174.3, 173.9, 171.5, 171.3, 136.9, 131.2, 129.3, 128.6, 109.4, 66.7, 60.3, 54.1, 53.3, 51.6, 45.7, 41.2, 36.0, 34.8, 33.7, 33.3, 28.2, 26.6, 25.5, 23.7. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub> 648.28, trovato 613 [M-Cl]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub>: C 53.66, H 6.37, N 17.26; trovato C 53.51, H 6.48, N 17.13.

Composto 28: purezza HPLC: 96.1%.  $[\alpha]_D^{22} = -96.8$  ( $c = 1.03$ , MeOH). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  0.11 (m, 1H), 0.92 (m, 1H), 1.50 (m, 2H), 1.62 (m, 3H), 1.78-1.96 (2H), 2.09 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 2.68, 2.76 (2 dd, 2H,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 7.7$  Hz,  $J = 16.0$  Hz, CH<sub>2</sub>COOH Asp), 2.81 (d, 1H,  $J = 12.7$  Hz, PhCHH), 3.16 (m, 2H, CH<sub>2</sub>NHC=NH Arg), 3.37 (2 d, 2H,  $J = 12.9$  Hz,  $J = 14.5$  Hz, PhCHH, CHH Gly), 3.60 (m, 1H, CHN), 4.28 (d, 1H,  $J = 14.5$  Hz, CHH Gly), 4.36 (dd, 1H,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 8.7$  Hz, CHCONH lactam), 4.42 (dd, 1H,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, NHCHCH<sub>2</sub> Arg), 4.76 (m, 1H, CHCH<sub>2</sub>COOH Asp), 7.00-7.20 (5H, Ph). <sup>13</sup>C NMR (75.4 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  174.8, 173.5, 172.7, 172.3, 171.8, 135.7, 130.6, 129.6, 128.5, 62.2, 61.7, 60.6, 60.0, 53.6, 53.0, 50.2, 44.9, 44.5, 41.3, 36.9, 35.6, 33.2, 31.6, 29.8, 28.4, 26.7, 25.3, 25.0. FAB<sup>+</sup>MS: calc. C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub> 634.26, trovato 599 [M-Cl]<sup>+</sup>. Anal. elem. calc. for C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>ClN<sub>8</sub>O<sub>7</sub>: C 52.95, H 6.19, N 17.64; trovato C 53.03, H 6.35, N 17.68.





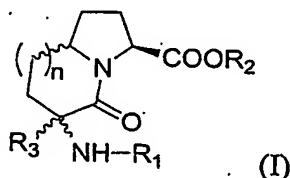


Composto **29**: purezza HPLC: 97.5%.  $[\alpha]_D^{22} = +38.1$  ( $c = 0.68$ , MeOH).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  1.40-1.89 (10H), 2.00-2.38 (4H) 2.81 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{COOH}$  Asp), 3.15 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{NHC}=\text{NH}$  Arg,  $\text{PhCH}_2$ ), 3.46 (d, 1H,  $J = 14.8$  Hz,  $\text{CHH}$  Gly), 4.14 (m, 1H,  $\text{CHN}$ ), 4.22 (m, 2H,  $\text{NHCHCH}_2$  Arg,  $\text{CHH}$  Gly), 4.44 (m, 1H,  $\text{CHCONH}$  lactam), 4.62 (m, 1H,  $\text{CHCH}_2\text{COOH}$  Asp), 7.12, 7.31 (2 m, 5H, *Ph*).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.4 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  175.6, 175.1, 173.8, 173.4, 171.6, 136.8, 131.5, 129.1, 127.9, 65.7, 64.9, 59.8, 54.3, 51.0, 44.8, 41.2, 35.0, 33.4, 32.5, 29.3, 28.0, 27.6, 25.1, 21.4. FAB<sup>+</sup>MS: calc.  $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_7$  648.28, trovato 613  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ . Anal. elem. calc.  $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_7$ : C 53.66, H 6.37, N 17.26; trovato C 53.50, H 6.47, N 17.22.



## RIVENDICAZIONI

1. Composti aventi la seguente formula generale:



dove:

- $R_1$  è scelto tra idrogeno, alchile inferiore, adatto gruppo protettivo dell'ammina;
- $R_2$  è scelto tra idrogeno, adatto gruppo protettivo del carbossile;
- $R_3$  è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;
- $n$  è un numero scelto tra 0, 1, 2;

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

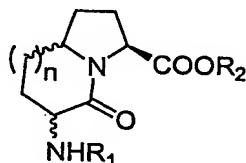
2. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che detto alchile inferiore è un gruppo alchilico  $C_1-C_4$ .
3. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che detto adatto gruppo protettivo è scelto tra estere alchilico o benzilico.
4. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che  $n$  è scelto uguale ad 1,  $R_3$  è scelto uguale a benzile.
5. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che  $n$  è scelto uguale ad 1,  $R_3$  è scelto uguale ad allile.
6. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che  $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale a benzile.
7. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che  $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale ad allile.



8. Composti secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che  $n$  è scelto uguale a 2,  $R_3$  è scelto uguale a metile.

9. Procedimento per la preparazione dei composti di cui alla rivendicazione 1, che comprende le seguenti fasi:

- formazione, in adatte condizioni di reazione, di un carbanione in posizione 3 a partire dal composto (Ia) avente la seguente formula:



(Ia)

o da un suo adatto derivato,

- alchilazione di detto carbanione con ottenimento del composto di formula generale (I)

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

10. Procedimento secondo la rivendicazione 9, caratterizzato dal fatto che

- $R_1$  è scelto tra idrogeno, alchile inferiore, adatto gruppo protettivo dell'ammina;
- $R_2$  è scelto tra idrogeno, adatto gruppo protettivo del carbossile;
- $R_3$  è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;

$n$  è un numero scelto tra 0, 1, 2;

11. Procedimento secondo la rivendicazione 10, caratterizzato dal fatto che detto alchile inferiore è un gruppo alchilico  $C_1-C_4$ .

12. Procedimento secondo la rivendicazione 9, caratterizzato dal fatto che detto  $R_3$  è



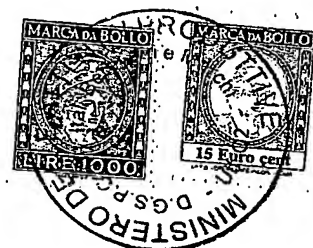
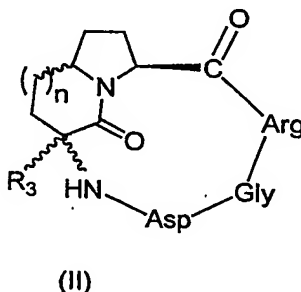
scelto uguale ad allile.

13. Procedimento secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che detto allile è trasformato in idrossietile o idrossipropile.

14. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 1 come intermedi nella sintesi di composti peptido-mimetici.

15. Impiego secondo la rivendicazione 14 nella sintesi di composti peptido-mimetici comprendenti la sequenza RGD (Arg-Gly-Asp).

16. Composti peptido-mimetici comprendenti la sequenza RGD (Arg-Gly-Asp) (Arginina, Glicina, Acido Aspartico) aventi la seguente formula generale (II)



dove:

- $R_3$  è scelto tra benzile, benzile sostituito, allile, idrossipropile, idrossietile, alchile inferiore;
- $n$  è un numero scelto tra 0, 1, 2;

compresi i sali, i racemati, le singole forme enantiomeriche, le singole forme diastereoisomeriche, o loro miscele.

17. Composti secondo la rivendicazione 16, caratterizzati dal fatto che detto alchile inferiore è un gruppo alchilico  $C_1$ - $C_4$ .

18. Composto secondo la rivendicazione 16, caratterizzato dal fatto che  $n$  è scelto



uguale ad 1 ed  $R_3$  è scelto uguale a benzile.

19. Composto secondo la rivendicazione 16, caratterizzato dal fatto che  $n$  è scelto uguale a 2 ed  $R_3$  è scelto uguale a benzile.

20. Composti secondo la rivendicazione 16, caratterizzati dal fatto che detto  $R_3$  è allile.

21. Composti secondo la rivendicazione 16, caratterizzati dal fatto che detto  $R_3$  è idrossietile o idrossipropile.

22. Procedimento per la preparazione di composti di cui alla rivendicazione 16, che comprende le seguenti fasi:

- reazione di deprotezione chemoselettiva del gruppo carbossilico del composto di formula generale (I) di cui alla rivendicazione 1 e condensazione con il dipeptide Arg-Gly opportunamente protetto e preventivamente preparato;
- reazione di protezione chemoselettiva del gruppo amminico dell'azabiccicloalcano e successiva condensazione con acido aspartico opportunamente protetto;
- trasformazione della glicina mediante reazione di transesterificazione seguita dalla contemporanea rimozione del gruppo protettivo della glicina e dell'aspartico;
- ciclizzazione intramolecolare mediata da condensanti e successiva deprotezione dei gruppi protettivi delle catene laterali degli ammino acidi.

23. Procedimento secondo la rivendicazione 22, caratterizzato dal fatto che detta deprotezione del gruppo amminico dell'azabiccicloalcano è realizzata mediante idrogenazione catalitica.

24. Procedimento secondo la rivendicazione 22, caratterizzato dal fatto che detta trasformazione della glicina è realizzata per transesterificazione del metilestere in



benzilestere e che detta successiva rimozione del gruppo protettivo della glicina e dell'aspartico è realizzata per idrogenazione catalitica.

25. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 16 come inibitori delle integrine.

26. Impiego secondo la rivendicazione 25 per l'inibizione delle integrine  $\alpha\beta3$  e  $\alpha\beta5$ .

27. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 16 come farmaci inibitori dell'angiogenesi.

28. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 16 come farmaci nel trattamento delle patologie di origine tumorale, nei processi tumorali metastatizzati, retinopatie, danni renali acuti ed osteoporosi.

29. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 16 come induttori di "reverse-turn".

30. Impiego dei composti di cui alla rivendicazione 16 come mediatori per il trasporto ed il rilascio di farmaci.

31. Composizioni farmaceutiche che comprendono almeno un composto di cui alla rivendicazione 16 in miscela con veicoli e/o eccipienti accettabili dal punto di vista farmaceutico.

32. Impiego delle composizioni farmaceutiche di cui alla rivendicazione 31 come inibitori delle integrine.

33. Impiego delle composizioni farmaceutiche di cui alla rivendicazione 31 per l'inibizione delle integrine  $\alpha\beta3$  e  $\alpha\beta5$ .

34. Impiego delle composizioni farmaceutiche di cui alla rivendicazione 31 come inibitori dell'angiogenesi.

35. Impiego delle composizioni farmaceutiche di cui alla rivendicazione 31 nel trattamento delle patologie di origine tumorale, nei processi tumorali metastatizzati, retinopatie, danni renali acuti ed osteoporosi.



36. Impiego delle composizioni farmaceutiche di cui alla rivendicazione 31 come mediatori per il trasporto ed il rilascio di farmaci.

Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

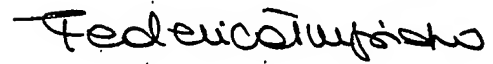
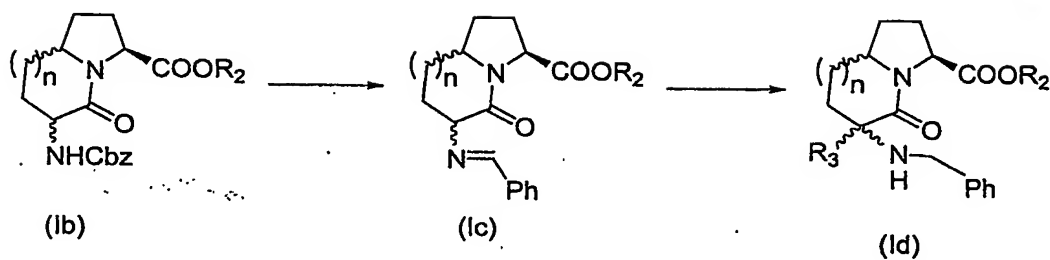


FIGURA 1



FIGURA 1a

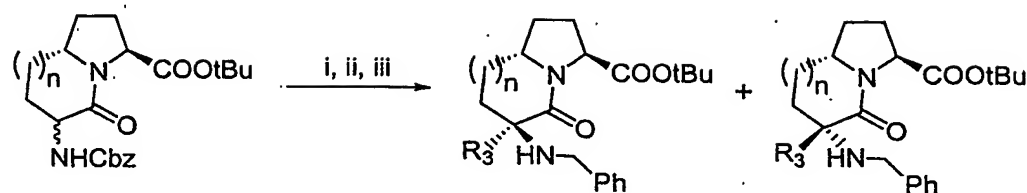


Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

*Federico Trupiano*



FIGURA 2



3 (3R):  $n = 1$ ,  $R_3 = -CH_2Ph$

4 (3S):  $n = 1$ ,  $R_3 = -CH_2Ph$

5 (3R):  $n = 1$ ,  $R_3 = -CH_2CH=CH_2$

6 (3S):  $n = 1$ ,  $R_3 = -CH_2CH=CH_2$

7 (3R):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_2Ph$

8 (3S):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_2Ph$

9 (3R):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_2CH=CH_2$

10 (3S):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_2CH=CH_2$

11 (3S):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_3$

12 (3R):  $n = 2$ ,  $R_3 = -CH_3$

i.  $H_2$ , Pd/C, MeOH; ii. PhCHO, TEA,  $MgSO_4$ ,  $CH_2Cl_2$ , (90-95% su 2 passaggi); iii. Base, THF,  $R_3Br$  (vedi Tabella),  $NaBH_4$ , MeOH

| n | Base               | T (°C)  | $R_3$          | Prodotti | Resa | Rapporto (3R)/(3S) |
|---|--------------------|---------|----------------|----------|------|--------------------|
| 1 | LiHMDS             | -78→rt  | $-CH_2Ph$      | 3, 4     | 56%  | 92:8               |
| 1 | LiHMDS             | -50     | $-CH_2Ph$      | 3, 4     | 89%  | 90:10              |
| 1 | LiHMDS + $Mg^{++}$ | -78→rt  | $-CH_2Ph$      | 3, 4     | 43%  | 5:95               |
| 1 | LiHMDS + $Mg^{++}$ | -50→-20 | $-CH_2Ph$      | 3, 4     | 43%  | >2:98              |
| 1 | LiHMDS             | -50     | $-CH_2CH=CH_2$ | 5, 6     | 90%  | 84:16              |
| 1 | LiHMDS + $Mg^{++}$ | -78→rt  | $-CH_2CH=CH_2$ | 5, 6     | 55%  | 7:93               |
| 1 | LiHMDS + $Mg^{++}$ | -50→-20 | $-CH_2CH=CH_2$ | 5, 6     | 45%  | >2:98              |

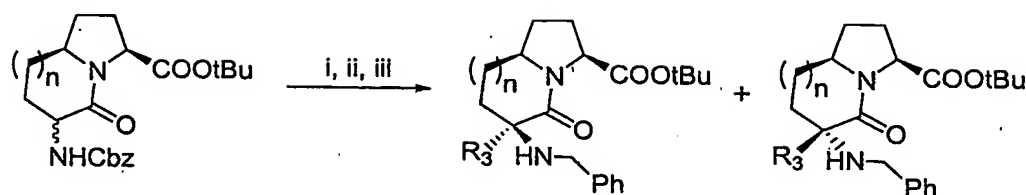
|   |                           |        |                                     |        |     |       |
|---|---------------------------|--------|-------------------------------------|--------|-----|-------|
| 2 | LiHMDS                    | -50    | -CH <sub>2</sub> Ph                 | 7, 8   | 82% | 40:60 |
| 2 | LiHMDS + Mg <sup>++</sup> | -78→rt | -CH <sub>2</sub> Ph                 | 7, 8   | 68% | >2:98 |
| 2 | NaHMDS                    | -78→rt | -CH <sub>2</sub> Ph                 | 7, 8   | 81% | 10:90 |
| 2 | NaHMDS +<br>DMPU          | -78→rt | -CH <sub>2</sub> Ph                 | 7, 8   | 59% | 9:91  |
| 2 | LiHMDS                    | -50    | -CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub> | 9, 10  | 67% | 55:45 |
| 2 | LiHMDS + Mg <sup>++</sup> | -78→rt | -CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub> | 9, 10  | 40% | 6:94  |
| 2 | LiHMDS                    | -78→rt | -CH <sub>3</sub>                    | 11, 12 | 69% | 78:22 |



Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

*Federico Trupiano*

FIGURA 3

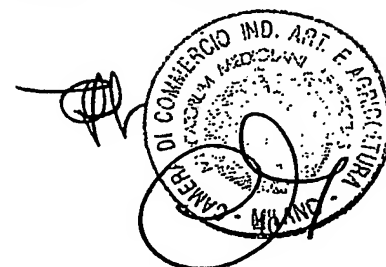


- 13 (3R):  $n = 1$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{Ph}$   
 14 (3S):  $n = 1$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{Ph}$   
 15 (3R):  $n = 1$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$   
 16 (3S):  $n = 1$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$   
 17 (3R):  $n = 2$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{Ph}$   
 18 (3S):  $n = 2$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{Ph}$   
 19 (3R):  $n = 2$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$   
 20 (3S):  $n = 2$ ,  $\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$

i.  $\text{H}_2$ , Pd/C, MeOH; ii. PhCHO, TEA,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , (90-95% su 2 passaggi); iii. Base, THF, (vedi Tabella),  $\text{NaBH}_4$ , MeOH

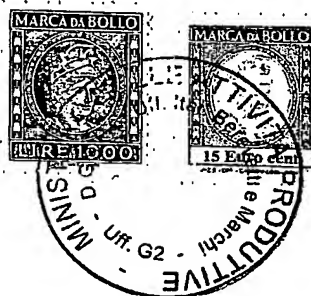
| n | Base                      | T (°C) | R <sub>3</sub>                      | Prodotti | Resa | Rapporto (3R)/(3S) |
|---|---------------------------|--------|-------------------------------------|----------|------|--------------------|
| 1 | LiHMDS + $\text{Mg}^{++}$ | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 13, 14   | 72%  | 9:91               |
| 1 | NaHMDS                    | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 13, 14   | 81%  | 23:77              |
| 1 | KHMDS                     | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 13, 14   | 58%  | 7:93               |
| 1 | KHMDS + DMPU              | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 13, 14   | 37%  | >2:98              |
| 1 | LiHMDS                    | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ | 15, 16   | 63%  | 10:90              |
| 1 | LiHMDS + $\text{Mg}^{++}$ | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ | 15, 16   | 42%  | >2:98              |
| 2 | LiHMDS                    | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 17, 18   | 65%  | 55:45              |
| 2 | LiHMDS + $\text{Mg}^{++}$ | -78→rt | $-\text{CH}_2\text{Ph}$             | 17, 18   | 70%  | 65:35              |

MI 2003A001476

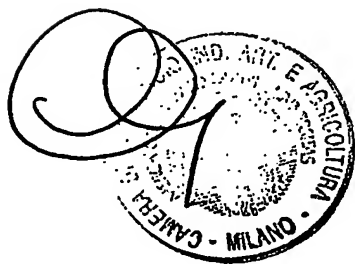


|   |                           |        |                                     |        |     |       |
|---|---------------------------|--------|-------------------------------------|--------|-----|-------|
| 2 | LiHMDS                    | -78→rt | -CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub> | 19, 20 | 58% | 53:47 |
| 2 | LiHMDS + Mg <sup>++</sup> | -78→rt | -CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub> | 19, 20 | 55% | 60:40 |

---



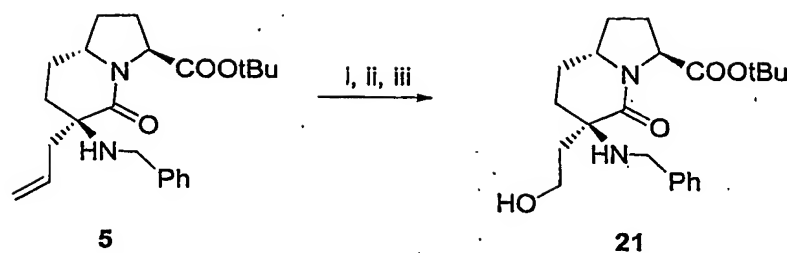
MI 200 31001476



Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

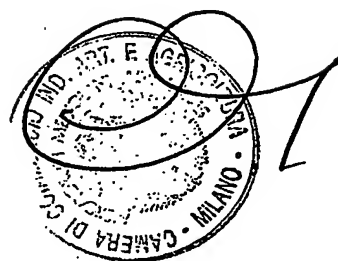
Federici Trupiano

FIGURA 4



i.  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ; ii.  $\text{O}_3$ ; iii.  $\text{NaBH}_4$

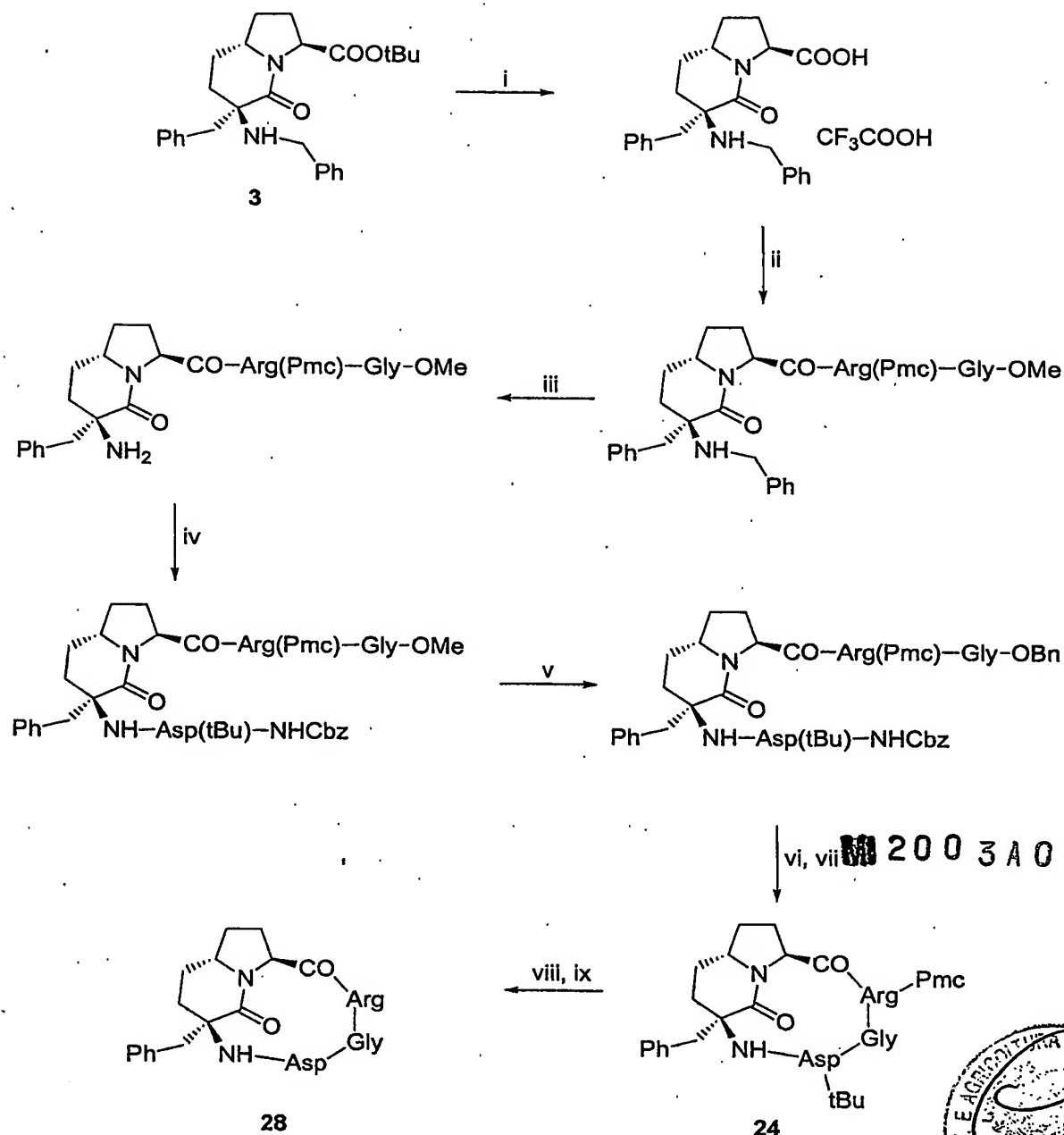
MI 200 3A 001 47 6



Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)

*F. Trupiano*

FIGURA 5

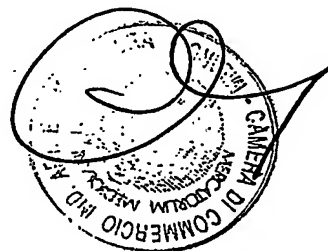


M 200 3 A 00 1 47.6



i.  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; ii.  $\text{iBuOCOC}$ l, NMM, H-Arg(Pmc)-Gly-OMe, THF,  $-30^\circ\text{C}$ , 90% (su 2 passaggi); iii.  $\text{H}_2$ , Pd/C, MeOH; iv. Z-Asp(tBu)-OH,  $\text{iBuOCOC}$ l, NMM, THF,  $-30^\circ\text{C}$ , 76% (su 2 passaggi); v. BnOH,  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ , THF,  $\Delta$ , 85%; vi.  $\text{H}_2$ , Pd/C, MeOH; vii. HATU, HOAt, 2,4,6-collidina, DMF, 72% (su 2 passaggi); viii.  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , scavengers; ix. HCl, 96% (su 2 passaggi).

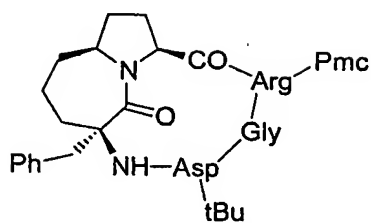
2003A001476



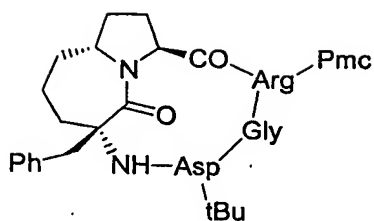
Dr. F. Trupiano (No. iscr. 613BM)

*Federico Trupiano*

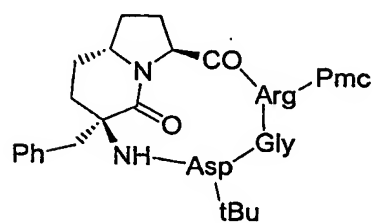
FIGURA 6



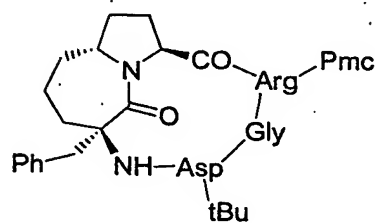
22



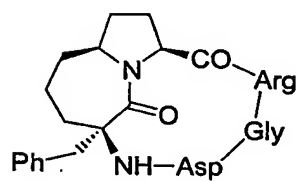
23



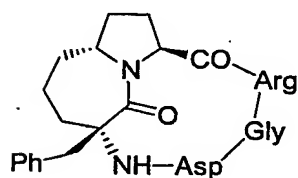
24



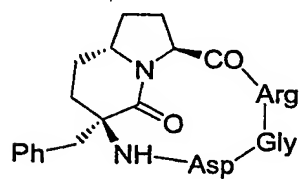
25



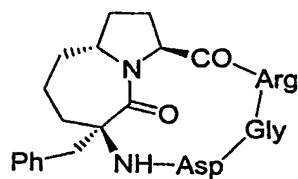
26



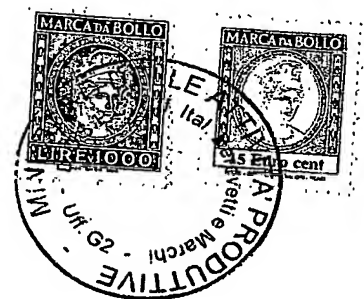
27



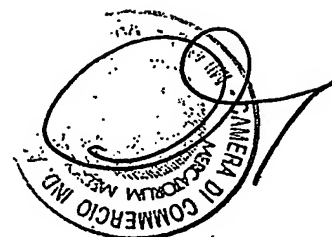
28



29



M 200 3 A 00 1 47 6



Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)



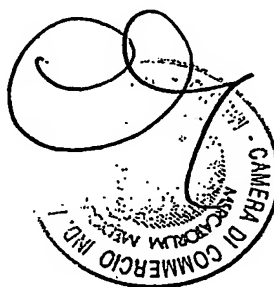
FIGURA 7

|   | Composto | IC <sub>50</sub> [nM] per $\alpha\text{v}\beta 3$ | IC <sub>50</sub> [nM] per $\alpha\text{v}\beta 5$ |
|---|----------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1 | 26       | 6.4 $\pm$ 0.1                                     | 7.7 $\pm$ 0.04                                    |
| 2 | 27       | 154.2 $\pm$ 12.7                                  | 242.6 $\pm$ 24.6                                  |
| 3 | 28       | 75.7 $\pm$ 1.6                                    | 325.6 $\pm$ 20.3                                  |
| 4 | 29       | 190.4 $\pm$ 19.5                                  | 221.9 $\pm$ 24.7                                  |

Inibizione del binding di [<sup>125</sup>I]-echistatina sui recettori  $\alpha\text{v}\beta 3$  and  $\alpha\text{v}\beta 5$ .

I valori di IC<sub>50</sub> vengono calcolati come la concentrazione di composti richiesta per l'inibizione del 50% del binding dell'echistatina come valutata dal programma Allfit. Tutti i valori sono la media ( $\pm$  deviazione standard) di determinazioni triplicate.

M 2003A001476



Dr. F. Trupiano (No. Iscr. 613BM)